

第3章 個別試験法

(追加：オリサストロビン試験法)

オリサストロビン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

オリサストロビン

(2*E*)-2-(メトキシイミノ)-2-{2-[(3*E*, 5*Z*, 6*E*)-5-(メトキシイミノ)-4,6-ジメチル-2,8-ジオキサー-3,7-ジアザノナ-3,6-ジエン-1-イル]フェニル}-*N*-メチルアセトアミド（以下「5*Z*異性体」という。）

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

オリサストロビン標準品 本品はオリサストロビン99%以上を含み、融点は98～99℃である。

5*Z*異性体標準品 本品は5*Z*異性体99%以上を含み、融点は95℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、メタノール50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40℃以下で約30 mLまで濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液を液相分離ろ紙でろ過した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1)で得られた溶液を注入した後、さらに酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液10 mLを注入する。全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

② アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）に*n*-ヘキサン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エ

チル及び *n*-ヘキサン（1：4）混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

オリサストロビン及び5 *Z*異性体の各標準品の0.025～0.5 mg/Lアセトン混合溶液を数点調製し、それぞれ2 μLをGCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液2 μLをGCに注入し、5の検量線でオリサストロビン及び5 *Z*異性体の含量を求め、オリサストロビン及び5 *Z*異性体の和としてオリサストロビンの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MSにより確認する。

8. 測定条件

1) GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：50%フェニルーメチルシリコン、内径 0.53 mm、長さ 15m、膜厚 1 μm

カラム温度：240℃

注入口温度：250℃

検出器温度：280℃

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：オリサストロビン 約7.9分、5 *Z*異性体 約8.5分

2) GC/MS

カラム：5%フェニルーメチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：100℃(1分)－10℃/分－280℃(5分)

注入口温度：250℃

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン(*m/z*)：205、132、116 (オリサストロビン及び5 *Z*異性体とも共通)

注入量：1 μL

保持時間の目安：オリサストロビン 約18.5分、5 *Z*異性体 約18.7分

9. 定量限界

オリサストロビン及び5 *Z*異性体の和として 0.01 mg/kg (それぞれ 0.005 mg/kg)

10. 留意事項

1) 試験法の概要

オリサストロビン及び5 *Z*異性体を試料からメタノールで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶す

る。グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、GC (FTD又はNPD) で測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

- ① 転溶溶媒 (*n*-ヘキサン) を脱水するために、液相分離紙の代わりに無水硫酸ナトリウムを使用した場合は、回収率の大幅な低下を招く。
- ② 液々分配においてエマルジョンが生成する場合は、代替法として多孔性ケイソウ土カラム (20 mL保持用) を利用する方法がある。操作概要を以下に示す。試料抽出液を約20 mLまで濃縮し、カラムに負荷した後、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液100 mLで溶出する。
- ③ 精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム (690 mg) による精製を追加するとよい。操作概要を以下に示す。残留物を *n*-ヘキサン 5 mLに溶解し、カラムに負荷した後、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 9) 混液 5 mLで洗浄し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (3 : 7) 混液10 mLで溶出する。
- ④ GC/MS測定では、オリサストロビン及び5 Z異性体の感度が試料マトリックスの影響により大幅に高まることがあるので注意を要する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C